

PRVPATENT- OCH REGISTRERINGSVERKET
Patentavdelningen

REC'D 03 AUG 2004

WIPO

PCT

**Intyg
Certificate**

Härmed intygas att bifogade kopior överensstämmer med de handlingar som ursprungligen ingivits till Patent- och registreringsverket i nedannämnda ansökan.

This is to certify that the annexed is a true copy of the documents as originally filed with the Patent- and Registration Office in connection with the following patent application.

(71) Sökande CellaVision AB, Lund SE
Applicant (s)

(21) Patentansökningsnummer 0302114-4
Patent application number

(86) Ingivningsdatum 2003-07-21
Date of filing

Stockholm, 2004-07-26

För Patent- och registreringsverket
For the Patent- and Registration Office


Görel Gustafsson

Avgift
Fee

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2003 -07- 2 1

Huvudfaxen Kassan

CellaVision AB

Anders Rosenqvist

ARQ001

SÄTT ATT URSKILJA EN OBJEKTkontur

TEKNISKT OMRÅDE

Föreliggande uppfinning avser ett sätt att urskilja en sökt objektkontur i en digital mikroskopbild enligt krav 1. Med uppfinningen avses även ett motsvarande arrangemang enligt krav 5 och ett digitalt lagringsmedium innesfattande ett motsvarande datorprogram enligt krav 6.

UPPFINNINGENS BAKGRUND

Människors blod innehåller röda blodceller, trombocyter och vita blodceller. I medicinska tillämpningar är det ofta av intresse att klassa de vita blodcellerna till cirka tjugo olika underklasser och att uppskatta fördelningen för dessa underklasser hos enskilda patienter. Traditionellt kan denna klassning göras på ett arbetsamt sätt genom att en mänsklig expert tittar i okularen i ett ljusmikroskop och därigenom studerar blod som strukits ut på ett objektglas. Klassningen kan också, fast med färre urskiljbara underklasser, göras med en så kallad cellräknare där utspäddt blod, cell för cell, passerar genom en smal förträngning i en så kallad flödescell. Vid passagen genom flödescellen mäts parametrar såsom elektrisk impedans och ljusspridning, vilka sedan ligger till grund för cellräknarens klassificering av den aktuella vita blodcellen.

De senaste årens utveckling inom bildanalys har gjort det möjligt att producera automatiska ljusmikroskop som kan söka av ett blodutstryk efter vita blodceller, autofokusera på dem, spara välfokuserade cellbilder, utföra automatisk segmentering av de erhållna cellbilderna, beräkna s.k. "features" (egenskaper) för varje segmenterad cellbild samt slutligen klassificera varje enskild funnen vit blodcell baserat på informationen i de beräknade "features".

Segmentering är att dela upp innehållet i en bild i olika regioner. I fallet vita blodceller är det önskvärda resultatet att vita blodceller separeras från de andra objekten i bilden såsom bakgrund, röda blodceller, trombocyter, skräp och så klart från övriga vita blodceller. Det kan dessutom vara önskvärt att segmenteringen skiljer på den vita blodcellens cellkärna och dess cytoplasma.

Den huvudsakliga anledningen till att segmentera ut de enskilda cellerna och deras delar är att det för närvarande inte finns några tillräckligt snabba och fungerande metoder för att klassificera utan den uppdelning av bildinformationen som segmenteringen innebär.

Acceptabla segmenteringsresultat kan ibland erhållas genom så kallad binär tröskling, vilket innebär att varje bildelement, även kallat pixel, i cellbilden hanteras utifrån om dess intensitet är över eller under en tröskelintensitet. Tröskelintensiteten kan vara lokal eller global, d.v.s. konstant över hela bilden.

En uppenbar nackdel med binär tröskling är att den objektkontur som erhålls är känslig för värdet på vald tröskelintensitet, t.ex. då belysningsförhållandena varierar inom en cellbild. Dessutom tar tröskling varken hänsyn till form eller s.k. icke-lokal information, d.v.s. hur

Huvudföreläsningen

objektet ser ut en bit från den sökta konturen. Binär tröskling kan därför resultera i att intilliggande objekt inte separeras utan segmenteras såsom ett objekt eller att ett objekt med en ursprunglig mjuk, rundad kontur ger en kantig kontur efter segmenteringen. Binär tröskling kan även resultera i att ett ursprungligt objekt segmenteras såsom flera. Därför används binär tröskling och mer förfinade trösklingsmetoder oftast endast som en inledande operation i mer kraftfulla segmenteringsmetoder.

Aktiva konturmodeller är en klass av metoder som sedan länge används för segmentering av bilder. Med de aktiva konturmetoderna uppskattas objektets kontur direkt istället för via vilka bildelement som tillhör objektet, såsom sker med tröskling. Alla aktiva konturmodeller använder något slags kontur som iterativt, under segmenteringens gång, ändrar sig under inverkan av s.k. interna krafter som härrör från konturen och dess form samt av s.k. externa krafter som härrör från bilden och dess innehåll av framförallt kantinformation.

Ett sätt att ta fram kantinformation ur bilder är att beräkna så kallade gradientbilder. Detta innebär i korthet att de ställen i bilden där intensiteten ändras mycket till beloppet på en sträcka motsvarande ett fåtal bildelement får stora gradientvärden. Kanter är bra exempel på sådant som ger upphov till stora gradientvärden. Gradientbilderna kan sedan efterbehandlas för att filtrera bort isolerade stora värden, troligtvis orsakade av skräp eller små detaljer, och för att framhäva långa sammanhängande stråk av stora värden, troligtvis orsakade av kanter hos det sökta objektet och andra objekt. En bild där bildelementens värden utgörs av någon form av gradientvärden, i form av rådata eller efter behandling, kallas nedan för kantbild.

De aktiva modellerna kan delas i två grupper. Den första gruppen är geometriska modeller såsom "Level Sets" och "Fast Marching"-metoder. Konturen representeras av mängden bestående av konturens bildelement. Fördelen med detta är att konturen kan anta godtyckliga former. Iterationerna innefattar operationer på konturens bildelement och dessas respektive närmaste grannar. Eftersom konturen kan ha godtyckliga former är det relativt komplicerat och beräkningstungt att hålla reda på alla konturens bildelement, deras grannar och deras inbördes lägen.

Den andra gruppen av aktiva konturmodeller är parametriska modeller såsom "snakes" (engelska för orm, nedan kallad snake), se artikeln "Snakes: Active contour models," International Journal of Computer Vision, 1(4): 321-331, 1987, av Kass, Witkin och Terzopoulos. En snake är en parametrisk konturmodell. Parametrarna i modellen kan t.ex. vara positionerna hos hörnen hos en polygon, men oftast är modellen mer avancerad t.ex. genom att den består av sammanfogade krökta konturelement. Snakens interna krafter strävar efter att ge en mjuk kontur medan de externa krafterna strävar efter att låta konturen passera nära många av de bildelement som innehåller kantinformation. Under segmenteringens gång kommer en snakebaserad algoritm att iterera position och form hos snaken tills en god kompromiss - förhoppningsvis den bäst passande konturen - mellan interna och externa krafter hittas. Genom att justera upp de interna krafternas betydelse kan formen hos den slutliga konturskattningen bli mer eller mindre begränsad till cirkellika objekt. På motsvarande sätt kan man genom att justera upp de externa krafternas betydelse få den slutliga konturskattningen till att bli mera oregelbunden. Eftersom snaken representeras av ett begränsat antal parametrar så är dess möjliga former inskränkta. För vita blodceller, som har relativt regelbundna konturer, är denna inskränkning sällan till någon nackdel. Snarare är det en fördel att snaken kommer att ha en regelbunden form även i de fall där objektets kontur framträder svagt i cellbilden och det därför blir relativt långt mellan de bildelement som ger

kantinformation. Dessutom kommer det begränsade antalet parametrar att göra att beräkningsbehovet under iterationerna minskar jämfört med en geometrisk modell. ^{Huvudföran Kassen}

Om snaken sätts igång nära den sökta konturen, så kommer den förmodligen att konvergera säkert och med få iterationer. En sådan igångsättning kan vara lätt för en mänsklig operatör men svår att åstadkomma genom automatisk bildanalys. Därför kommer automatisk segmentering att kräva att snaken kan sättas igång relativt långt från den sökta objektkonturen men ändå konvergera både säkert och snabbt. Det kravet leder i sin tur till kravet att snakens externa krafter måste kunna leda snaken rätt även från bildelement som ligger långt från den önskade konturen. För att vara användbara som indata till en snake bör de externa krafterna helt enkelt, för varje bildelement i originalbilden, peka mot bildelement med högre kantinformation, d.v.s. större kantlikhet. Därför är det lämpligt att använda benämningen vektorkraftfält för de externa krafterna som funktion av läget i cellbilden.

Ett känt sätt att erhålla ett vektorkraftfält är att ta en kantbild med värden $f(x,y)$, som beror på respektive bildelements x- och y-koordinater, och sedan differensbilda $f(x,y)$ med avseende på x respektive y. Differensbildningarna kan till exempel definieras av

$$f_x(x,y)=f(x+1,y)-f(x-1,y) \text{ (ekv. 1) respektive}$$

$$f_y(x,y)=f(x,y+1)-f(x,y-1) \text{ (ekv. 2).}$$

Det då erhållna vektorkraftfältet $[f_x(x,y), f_y(x,y)]$ är ett exempel på ett yttre kraftfält. Ett sådant vektorkraftfält har som största nackdel att det snabbt avtar i storlek när koordinaterna (x,y) avlägsnar sig från de punkter som har $f(x,y)$ skild från noll. Således fungerar ett sådant vektorkraftfält inte speciellt bra då snaken sätts igång relativt långt från den sökta objektkonturen.

Ett känt sätt att försöka förbättra avståndsverkan hos vektorkraftfältet ovan är att smeta ut kantbilden, före eller efter differensbildningen med t.ex. ett tvådimensionellt gaussiskt filter, men det kan ge andra problem såsom att detaljer kan bli mindre tydliga.

Gradientvektorflödesmetoden är en metod som åstadkommer ett statiskt externt vektorkraftfält, ett så kallat GVF-fält (Gradient Vector Flow Field), beräknat på basis av en, exempelvis som ovan, differensbildad kantbild innehållande information om den sökta objektkonturen. (Se exempelvis examensarbetsrapporten "Segmentation of Histopathological Tissue Sections Using Gradient Vector Flow Snakes", Matematikcentrum, Lunds Universitet och Lunds Tekniska Högskola, 18:e mars 2002, av Adam Karlsson eller originalreferensen "Gradient vector flow: A new external force for snakes," IEEE Proceedings on Computer Vision and Pattern Recognition, Puerto Rico, pages 66-71, 1997 av Xu och Prince).

Ett GVF-fält uppfyller kravet att vara ett externt vektorkraftfält som leder snaken i rätt riktning även från stora geometriska avstånd från den önskade konturen. En snake som använder ett GVF-fält kallas nedan en GVF-snake. GVF-fältet beräknas då en gång per segmentering – i inledningen av densamma. Sådana segmenteringsmetoder är redan kända.

I examensarbetsrapporten av Adam Karlsson ovan beskrivs vidare ett snabbt sätt att iterera snakens parametrar, d.v.s. hur snakens position och form itereras på basis av GVF-fältet. I rapporten konstateras att tidsprestanda hos en GVF-snake, som använder detta snabba sätt att iterera parametrarna, kommer att vara begränsad av tiden det tar att beräkna GVF-fältet.

Huvudfaxen Kassen

Det traditionella beräknings sättet för GVF-fält enligt Xu och Prince innehåller iterativ lösning av

$$\mu \Delta u - (u - f_x)(f_x^2 + f_y^2) = 0 \quad (\text{ekv. 3}) \text{ och}$$

$$\mu \Delta v - (v - f_y)(f_x^2 + f_y^2) = 0 \quad (\text{ekv. 4}),$$

där Δ är den så kallade Laplaceoperatör - ett slags tvådimensionell andra ordningens differensbildningsoperator - och där μ är en parameter som kan behöva justeras beroende på applikationen, d.v.s. vilket slags objekt det är och i vilken omgivning de finns.

Beräkningen av GVF-fältet innebär att ett vektorkraftfält $[f_x(x,y), f_y(x,y)]$ med begränsad avståndsverkan ger upphov till ett annat vektorkraftfält - GVF-fältet, $[u(x,y), v(x,y)]$ - med förbättrad avståndsverkan fast utan att detaljer går förlorade. Indata till beräkningen kan anses vara två bilder, f_x respektive f_y , och utdata kan anses vara två andra bilder, u respektive v .

Att lösa ekvationerna 3 och 4 kräver ett betydande antal iterationer för att lösningen ska konvergera. Om det intressanta området kring objektet i originalbilden tar upp m gånger n pixlar så kommer dessutom respektive ekvations samband att innehålla m gånger n ekvationer, vilket leder till att lika många obekanta, vilket för bilder lätt blir tiotusentals obekanta, ska uppdateras vid varje iteration.

Det är inget ovanligt att traditionell beräkning av GVF-fältet, med en 1GHz PC-processor, tar flera tiondels sekunder per cellbild. För en analys av 200 vita blodceller motsvarar det en total segmenteringstid på uppemot en minut, vilket begränsar prestanda hos existerande automatiska ljusmikroskop såvida inte extra, fördyrande, hårdvara införs.

SAMMANFATTNING AV UPPFINNINGEN

Ett syfte med föreliggande uppfinning är att helt eller delvis avhjälpa ovan nämnda problem.

Detta syfte uppnås med ett sätt att urskilja en sökt objektkontur ur en digital mikroskopbild enligt krav 1, med ett motsvarande arrangemang enligt krav 5 och digitalt lagringsmedium innefattande ett datorprogram enligt krav 6.

Närmare bestämt avser uppfinningen då, enligt en första aspekt, ett sätt att urskilja en sökt objektkontur ur en digital mikroskopbild, som innefattar ett flertal bildelement och avbildar biologiskt material. Sättet kännetecknas av stegen: att åtminstone en första delmängd av bildelementen i bilden tilldelas kantvärden, att åtminstone en andra delmängd av bildelementen i bilden tilldelas värden på en första gradientvektorkomponent vars värden vardera innefattar en första linjärkombination av kantvärden hos några omgivande bildelement, att åtminstone en tredje delmängd av bildelementen i bilden tilldelas värden på en andra gradientvektorkomponent vars värden vardera innefattar en andra linjärkombination av kantvärden hos några omgivande bildelement; och att utifrån värden på den första och den andra gradientvektorkomponenten beräkna en uppskattning av den sökta objektkonturen.

Ett sådant sätt har visat sig ge ett snabbt beräknat approximativt GVF-fält, nedan kallat AGVF-fält. Beräkningen av AGVF-fältet görs så att, fastän det resulterande AGVF-fältet avviker något från det traditionella GVF-fältet, segmenteringsresultaten för vita blodceller visar sig bli i stort sett opåverkade. Med ett sätt enligt uppfinningen kan således tiden för

Huvudförfaren Kaseen
användning av snakes med GVF-egenskaper i segmenteringen i ett automatiskt ljusmikroskop
kapas märkbart. Den föreliggande uppfinningen möjliggör därför användandet av förbättrad
segmentering i kommersiella automatiskt avsökande mikroskop för analys av vita blodceller.

För andra applikationer än vita blodceller kan AGVF användas som det är eller som ett sätt att
accelerera, t.ex. genom att hoppa över, de inledande iterationerna i en traditionell GVF-metod.

Med en andra aspekt av uppfinningen avses ett arrangemang för urskiljning en sökt
objektkontur ur en digital mikroskopbild, som innefattar ett flertal bildelement och avbildar
biologiskt material. Arrangemanget kännetecknas av: medel för att till en första delmängd av
bildelementen i bilden tilldela kantvärden, medel för att till en andra delmängd av
bildelementen i bilden tilldela värden på en första gradientvektorkomponent vardera
innefattande en första linjärkombination av kantvärden hos några omgivande bildelement,
medel för att till en tredje delmängd av bildelementen i bilden tilldela värden på en andra
gradientvektorkomponent vardera innefattande en andra linjärkombination av kantvärden hos
några omgivande bildelement; och medel för att utifrån värden på den första och andra
gradientvektorkomponenten beräkna en uppskattning av den sökta objektkonturen.

Arrangemanget innebär motsvarande fördelar som sättet och kan även varieras i likhet med
detta.

Med en tredje aspekt av uppfinningen avses ett digitalt lagringsmedium innefattande ett
datorprogram för urskiljning av en sökt objektkontur ur en digital mikroskopbild, som
innefattar ett flertal bildelement och avbildar biologiskt material. Lagringsmediet
kännetecknas av instruktioner motsvarande stegen: att åtminstone en första delmängd av
bildelementen i bilden tilldelas kantvärden, att åtminstone en andra delmängd av
bildelementen i bilden tilldelas värden på en första gradientvektorkomponent vars värden
vardera innefattar en första linjärkombination av kantvärden hos några omgivande
bildelement, att åtminstone en tredje delmängd av bildelementen i bilden tilldelas värden på
en andra gradientvektorkomponent vars värden vardera innefattar en andra linjärkombination
av kantvärden hos några omgivande bildelement; och att utifrån värden på den första och den
andra gradientvektorkomponenten beräkna en uppskattning av den sökta objektkonturen.

Datorprogrammet innebär motsvarande fördelar som sättet och kan även varieras i likhet med
detta.

KORT FIGURBESKRIVNING

Fig 1a och 1b visar en digital gråskalebild av en vit blodcell omgiven av bakgrund, röda
blodceller och en trombocyt. Bilden är ett exempel på vad som avses med en cellbild.

Fig 2 visar en preliminär uttröskling av den vita blodcellens cellkärna.

Fig 3 visar en kantbild där de mörkaste områdena är möjlig cellkontur och där de ljusaste
områdena är sådant som troligtvis inte är cellkontur.

Fig 4 visar med pilar ett ur kantbilden erhållet approximativt GVF-fält överlagrat på fig 3 för
jämförelse.

Fig 5 visar en möjlig frökontur till en snake - nämligen det så kallade konvexa höljet av den i
fig 2 preliminärt uttrösklade cellkärnan.

Fig 6 visar den uppskattade objektkonturen då segmenteringen är klar med cytoplasman, d.v.s. cellkonturen.

Fig 7 visar den uppskattade cellkonturen från fig 6 tillsammans med den uppskattade konturen hos cellkärnan.

Figur 8a och 8b visar ett arrangemang enligt uppfinningen.

Figur 9 visar ett flödesschema för ett förfarande enligt uppfinningen.

BESKRIVNING AV FÖREDRAGNA UTFÖRINGSFORMER

En vit blodcell består, ur segmenteringssynpunkt, av två delar – cellkärnan 22 och den omgivande cytoplasman 21. Segmenteringsresultaten för de två delarna är till viss beroende av varandra:

För att med automatisk bildanalys kunna klara att hitta gränsen mellan cytoplasma och bakgrund trots närvaro av intilliggande celler, markerade med R och T i fig 1b, så är det bra att kunna starta snaken från en så kallad frökontur som är helt inuti cellen. Därför önskar man, å ena sidan, att ha tillgång till en uppskattning, t.ex. en segmentering, av cellkärnan som s.k. frökontur för snaken.

För att förenkla segmenteringen av cellkärnan så är det, å andra sidan, bra att ha tillgång till en bild där det bara finns cytoplasma och cellkärna kvar – d.v.s. från en bild där cellen redan är segmenterad från bakgrunden och intilliggande celler. För att undvika att fastna i en iterativ process så används i en föredragen utföringsform en preliminär segmentering av cellkärnan, se fig 2, vilken duger gott för ändamålet.

I en föredragen utföringsform görs ett antal deloperationer utgående från en ursprunglig cellbild som, likt bilden i fig 1a, innehåller den vita blodcell vars kontur och kärna söks. Fig 8b ger en översikt av hur medel motsvarande dessa deloperationer kan förhålla sig till varandra.

PRELIMINÄR SEGMENTERING AV KÄRNAN

I deloperationen motsvarande 83 beräknas en preliminär segmentering av kärnan för att åstadkomma en frökontur till en snake. Fig 2 visar resultatet hos en sådan preliminär segmentering. Denna preliminära segmentering görs med hjälp av kända binära trösklingsmetoder på företrädesvis grön färgkomponent hos den ursprungliga cellbilden eller eventuellt på en viktning av grön och blå färgkomponent.

BERÄKNING AV KANTBILDEN

I deloperationen motsvarande 84 beräknas värden hos en kantbild till exempel genom gradientbildning av cellbilden med efterföljande bearbetning så att endast de starkaste kanterna kommer med. Se de mörkaste områdena i fig 3.

I kantbilden kan vidare den preliminära kärnan företrädesvis finnas med såsom en "anti"-kant med negativa kantvärden – se de ljusaste områdena i fig 3. På så vis kommer kantbilden när AGVF-fältet beräknats att ha tillfört informationen att den sökta cellkonturen befinner sig utanför cellkärnan.

I en föredragen utföringsform är kantbilden trinär, d.v.s. dess element har tre möjliga värden, ett värde för kant (1), ett värde för kärna (-1) och ett värde för övrigt (0). Det är även möjligt att låta kantvärdena och kärnvärdena avvika olika mycket från övrigtvärdet.

Det är inte nödvändigt att beräkna kantbildens innehåll för alla bildelement hos cellbilden. Det räcker med att beräkna den för en omgivning runt den preliminärt segmenterade cellkärnan där omgivningen är så stor att en vit blodcell med stor säkerhet får plats. Genom att inte arbeta med större kantbild än vad som behövs för att kunna hitta objektets kontur, så sparas beräkningsoperationer framförallt i samband med beräkning av AGVF-fältet.

Det är fördelaktigt att välja kantbilden till att vara kvadratisk med en sidlängd som är en jämn tvåpotens eftersom Fouriertransformerna nedan beräknas mest effektivt för sådana sidlängder med hjälp av den välkända snabba Fouriertransformen, FFT. En sådan kvadratisk kantbild är exempel på en första delmängd av bildelement.

BESTÄMNING AV SNAKEFRÖ

I deloperationen motsvarande 85 görs en bestämning av en frökontur med data från en deloperation motsvarande 83 som indata. För segmentering av vita blodceller används företrädesvis det så kallade konvexa höljet av den preliminärt segmenterade kärnan. Med konvext hölje avses en mängd bildelement med konvex kontur och som innehåller alla de bildelement som tillhör den preliminärt segmenterade kärnan. Se fig 5.

BERÄKNING AV KOMPONENTERNA I AGVF-FÄLTET

I deloperationen 86 beräknas värden för komponenterna i AGVF-fältet med kantbilden från en deloperation motsvarande 84 som indata. Beräkningarna kan ske på minst två principiellt skilda sätt.

I det första sättet differensbildas först kantbilden, vilket företrädesvis sker enligt ekvationerna 1 och 2 ovan.

Därefter tar själva AGVF-beräkningen vid. I enlighet med uppfinningen beräknas AGVF-fältet genom lösning av

$$\mu\Delta u - (u - f_x) \cdot 1 = 0 \quad (\text{ekv. 5}) \text{ och}$$

$$\mu\Delta v - (v - f_y) \cdot 1 = 0 \quad (\text{ekv. 6}),$$

där Δ är den så kallade Laplaceoperatoren, ett slags tvådimensionell andra ordningens differensbildningsoperator, vilken företrädesvis beräknas genom tvådimensionell filtrering med 3×3 -matrisen

$$L = \begin{pmatrix} 0 & 1 & 0 \\ 1 & -4 & 1 \\ 0 & 1 & 0 \end{pmatrix}$$

Ekvationerna 5 och 6 kan då skrivas om till

$$(\mu L - 1) * u = f_x \quad (\text{ekv. 7}) \text{ respektive}$$

$$(\mu L-1)*v=-f_y \text{ (ekv. 8),}$$

där symbolen * innebär så kallad faltningsoption mellan 3x3-matrisen $(\mu L-1)$ och $m \times n$ -bilderna u respektive v . Denna omskrivning är nyckeln till snabbheten i den föreliggande AGVF-metoden. Det är ett välkänt faktum att faltning i samband med Fouriertransform övergår i elementvis multiplikation och omvänt. Innehållet i 3x3-matrisen är alltså en viktning av ett Laplacefilter och ett enhetsfilter.

En sådan omskrivning är inte möjlig i samband med den traditionella GVF-metoden p.g.a. att faktorn $(f_x^2 + f_y^2)$, som varierar över bilden, finns med i ekvationerna 3 och 4.

Ekvationerna 7 och 8 går att lösa snabbt mha den snabba Fouriertransformen, FFT. Komponenterna u och v hos AGVF-fältet kan på så sätt, explicit, fås genom sambanden

$$u = -F^{-1}[F(f_x)/F(\mu L-1)] \text{ (ekv. 9) respektive}$$

$$v = -F^{-1}[F(f_y)/F(\mu L-1)] \text{ (ekv. 10),}$$

där F betecknar den tvådimensionella diskreta Fouriertransformen, F^{-1} betecknar motsvarande inversa Fouriertransform och $/$ betecknar elementvis division i frekvensplanet.

Så länge μ är konstant så kommer varken $F(\mu L-1)$ eller $1/F(\mu L-1)$ att variera varför hela delresultatet $1/F(\mu L-1)$ kan lagras för att ytterligare snabba upp beräkningarna.

Lämpliga värden på μ kan vara något tiotal. Vilka värden som är bäst beror på bl.a. de sökta objekten, objektivets förstoring, cellstorleken och kamerans pixelstorlek. Det är lämpligt att bestämma μ genom att experimentera med ett antal celler under manuell övervakning av segmenteringen.

Som framgår av ekvationerna 9 och 10 så är beräkningarna av u och v linjära operationer på f_x respektive f_y , vilka i sin tur kommer av linjära differensbildningsoperationer på f . Därför kan man, enligt en andra möjlig beräkningsprincip, för sådana kantbilder där den numeriska stabiliteten tillåter det, kasta om ordningen på differensbildning och filtrering och spara 50% av beräkningsåtgången för Fouriertransformoperationerna. Ett sådant sätt att beräkna AGVF består av operationerna:

$$w = -F^{-1}[F(f)/F(\mu L-1)] \text{ (ekv. 11),}$$

$$u_w(x,y) = w(x+1,y) - w(x-1,y) \text{ (ekv. 12) samt}$$

$$v_w(x,y) = w(x,y+1) - w(x,y-1) \text{ (ekv. 13),}$$

där beteckningarna u_w och v_w valts för att betona att AGVF-fältets två komponenter i det fallet beräknats från ett gemensamt filtreringsresultat, w .

Eftersom Laplaceoperatoren har en viss geometrisk utsträckning så är det inte självklart att AGVF-fältets komponenter är användbara eller ens giltiga ända ut i kanterna hos kantbilden. Därför kan de mängder av bildelement, den andra respektive tredje delmängden av bildelement, som får användbara värden på AGVF-fältets komponenter vara något mindre än den första delmängden.

Det är inte nödvändigt att använda sig av ett rätvinkligt koordinatsystem x och y varken i mikroskopbilden, i kantbilden eller i AGVF-fältet, men det underlättar i beräkningarna.

I en föredragen utföringsform görs dessutom en normalisering av det bildelementvisa beloppet hos AGVF-fältet, se fältet i fig 4. En sådan normalisering syftar till att framhäva riktningen hos den externa vektorkraftfältet, vilket är den viktigaste informationen för snakealgoritmen.

BERÄKNING AV UPPSKATTNINGEN AV DEN SÖKTA CELLKONTUREN

I deloperationen motsvarande 87 uppskattas den sökta cellkonturen utifrån frökontur från en deloperation motsvarande 85 och AGVF-fältet från en deloperation motsvarande 86. Uppskattningen beräknas företrädesvis med hjälp av en snake, d.v.s. med en parametrisk konturmodell, som det beskrivs i den ovan nämnda examensarbetsrapporten. Se fig 6.

BERÄKNING AV SLUTLIG SEGMENTERING AV KÄRNAN

I deloperationen motsvarande 88 beräknas, då så önskas, en skattning av slutlig kärnkontur. Detta kan ske med en metod som arbetar baserat på den skattade cellkonturen från en deloperation motsvarande 87. Se fig 7. Ett möjligt sätt är att använda sig av en linjär transformation från cellbildens tre färgkomponenter till två transformerade färgkomponenter och en gränslinje i planet för de två transformerade färgkomponenterna. Transformationen och gränslinjen har då företrädesvis tagits fram i förväg genom experiment på handsegmenterade celler där såväl transformation som gränslinje optimerats för att på bästa sätt klassa cytoplasmaelement och kärnelement till respektive klass. Experimenten kan behöva göras om för varje ny typ av infärgning av de vita blodcellerna. Ett annat möjligt sätt är att deloperationen adaptivt förändrar transformationen och/eller gränslinjen för att följa infärgningsvariationer genom maximera den spatiala homogeniteten hos de bildelement som hänförs till respektive klass.

SEGMENTERINGSRESULTAT

Segmenteringsresultatet från en deloperation motsvarande 89 består av cellkonturen, kärnkonturen och cellbilden. Genom att använda respektive konturer kan hela cellen, eller cytoplasman och kärnan var för sig erhållas som segmenterade bilder.

Fig 8a visar ett system med ett arrangemang enligt uppfinningen. Detta system innefattar ett digitalt mikroskop 81, som är kopplat till ett datorsystem 82. Det digitala mikroskopet 81 levererar digitala mikroskopbilder i gråskala eller färg till datorsystemet 82. Viss digital bearbetning av de digitala bilderna kan föregå att de levereras till datorsystemet 82. Datorsystemet 82 kan vara integrerat i mikroskopet 81.

Datorsystemet 82 innefattar medel 83 - 89 för att utföra de steg som ingår i det ovan visade segmenteringsförfarandet.

Det ingår då ett medel 83 för att utifrån en digital cellbild välja en mängd av bildelement som troligtvis är cellkärnelement. Detta medels utsignal är en indikering av vilka bildelement som valts i bilden, jfr fig 2.

Vidare ingår ett medel 84 för att utifrån den digitala cellbilden och från utdata från medel 83, för en mängd bildelement som åtminstone innefattar de med medel 83 utvalda bildelementen, beräkna kantvärden. Detta medels utsignal är en kantbild, jfr fig 3.

Vidare ingår ett medel 85 för att utifrån utdata från medel 83, bestämma en frökontur. Detta medels utsignal är frökonturen, jfr fig 5.

Utsignalen från medel 84 matas till ett medel 86 som, för de bildelement som ingår i kantbilden, beräknar värden hos komponenterna i ett approximativt GVF-fält. Utsignalen från medel 86 är värdena hos de två komponenterna i GVF-fältet.

Utsignalerna från medel 85 och 86 matas till ett medel 87 som med en snake-metod uppskattar objektkonturen, vilket även utgör medlets utdata.

Med medel 88 kan, baserat på den digitala cellbilden, utdata från medel 87 samt en färgtransformation och en gränslinje, vilka är fixa eller adaptivt förändrade, en slutlig uppskattning av cellkärnan bestämmas. Utdata från medel 88 utgörs av den uppskattade cellkärnan.

Medel 89 kan, baserat på den digitala cellbilden och utdata från medlen 87 och 88, framställa delbilder av cell, cytoplasma och cellkärna. Utdata utgörs av delbilderna, vilka sedan kan analyseras vidare i på segmenteringen följande bildanalysoperationer, såsom "feature"-beräkning och klassning med artificiella neurala nätverk.

Ovannämnda medel 83-89 kan allmänt utgöras av datorsystemet, försett med ett datorprogram för utförande av steg enligt sättet. Detta datorprogram kan lagras separat på ett digitalt lagringsmedium. Det är emellertid även möjligt att realisera åtminstone en del av ovan visade medel i hårdvaruform, exempelvis som ASIC- eller FPGA-kretsar.

Det är även möjligt att utföra beräkningssteg distribuerat. Segmenteringsförfarandet behöver inte ske på plats vid mikroskopet. Hela eller delar av förfarandet kan utföras exempelvis i en Internet-server, belägen på avstånd från mikroskopet.

Fig 9 visar ett flödesschema för ett sätt 90, enligt uppfinningen, att urskilja ett sökt objekt i en digital bild.

I ett första steg 91 bestäms värden hos elementen i en kantbild.

I ett andra steg 92 beräknas värden hos komponenterna i ett AGVF-fält.

I ett tredje steg 93 bestäms en frökontur.

I ett fjärde steg 94 uppskattas den sökta objektkonturen på basis av AGVF-fältvärdena och frökonturen företrädesvis med hjälp av en snake.

Uppfinningen kan användas till annat än segmentering av vita blodceller, till exempel till segmentering av enskilda cellkärnor vävnadsutsnitt.

2003 -07- 2 1

Huvudfaxen Kassan

PATENTKRAV:

Krav 1: Sätt att urskilja en sökt objektkontur ur en digital mikroskopbild, som innefattar ett flertal bildelement och avbildar biologiskt material, *kännetecknat* av stegen

- att åtminstone en första delmängd av bildelementen i bilden tilldelas kantvärden
- att åtminstone en andra delmängd av bildelementen i bilden tilldelas värden på en första gradientvektorkomponent vars värden vardera innefattar en första linjärkombination av kantvärden hos några omgivande bildelement
- att åtminstone en tredje delmängd av bildelementen i bilden tilldelas värden på en andra gradientvektorkomponent vars värden vardera innefattar en andra linjärkombination av kantvärden hos några omgivande bildelement
- att utifrån värden på den första och den andra gradientvektorkomponenten beräkna en uppskattning av den sökta objektkonturen

Krav 2: Sätt enligt krav 1 *kännetecknat* av att den första och den andra linjärkombinationen vardera motsvarar, i godtyckling ordning, en filtrering i bildplanet med ett 3x3-filter samt en differensbildning i varsin riktning i bildplanet.

Krav 3: Sätt enligt krav 2 *kännetecknat* av att 3x3-filtret motsvarar en filtrering med en viktning av ett Laplacefilter och ett enhetsfilter.

Krav 4: Sätt enligt något av kraven 1-3 *kännetecknat* av att den första och andra linjärkombinationen beräknas genom med hjälp av Fouriertransform.

Krav 5: Arrangemang för urskiljning en sökt objektkontur ur en digital mikroskopbild, som innefattar ett flertal bildelement och avbildar biologiskt material, *kännetecknat* av:

- medel för att till en första delmängd av bildelementen i bilden tilldela kantvärden
- medel för att till en andra delmängd av bildelementen i bilden tilldela värden på en första gradientvektorkomponent vardera innefattande en första linjärkombination av kantvärden hos några omgivande bildelement
- medel för att till en tredje delmängd av bildelementen i bilden tilldela värden på en andra gradientvektorkomponent vardera innefattande en andra linjärkombination av kantvärden hos några omgivande bildelement
- medel för att utifrån värden på den första och andra gradientvektorkomponenten beräkna en uppskattning av den sökta objektkonturen.

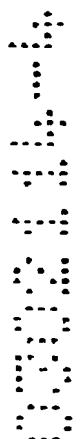
Krav 6: Digitalt lagringsmedium innefattande ett datorprogram för urskiljning av en sökt objektkontur ur en digital mikroskopbild, som innefattar ett flertal bildelement och avbildar biologiskt material, *kännetecknat* av instruktioner motsvarande stegen:

- att åtminstone en första delmängd av bildelementen i bilden tilldelas kantvärden
- att åtminstone en andra delmängd av bildelementen i bilden tilldelas värden på en första gradientvektorkomponent vars värden vardera innefattar en första linjärkombination av kantvärden hos några omgivande bildelement
- att åtminstone en tredje delmängd av bildelementen i bilden tilldelas värden på en andra gradientvektorkomponent vars värden vardera innefattar en andra linjärkombination av kantvärden hos några omgivande bildelement
- att utifrån värden på den första och den andra gradientvektorkomponenten beräkna en uppskattning av den sökta objektkonturen

SAMMANDRAG

Uppfinningen avser ett sätt att urskilja en sökt objektkontur ur en digital mikroskopbild, som innefattar ett flertal bildelement och avbildar biologiskt material. Sättet kännetecknas av stegen: att åtminstone en första delmängd av bildelementen i bilden tilldelas kantvärden, att åtminstone en andra delmängd av bildelementen i bilden tilldelas värden på en första gradientvektorkomponent vars värden vardera innefattar en första linjärkombination av kantvärden hos några omgivande bildelement, att åtminstone en tredje delmängd av bildelementen i bilden tilldelas värden på en andra gradientvektorkomponent vars värden vardera innefattar en andra linjärkombination av kantvärden hos några omgivande bildelement; och att utifrån värden på den första och den andra gradientvektorkomponenten beräkna en uppskattning av den sökta objektkonturen

Publiceringsbild: fig 9



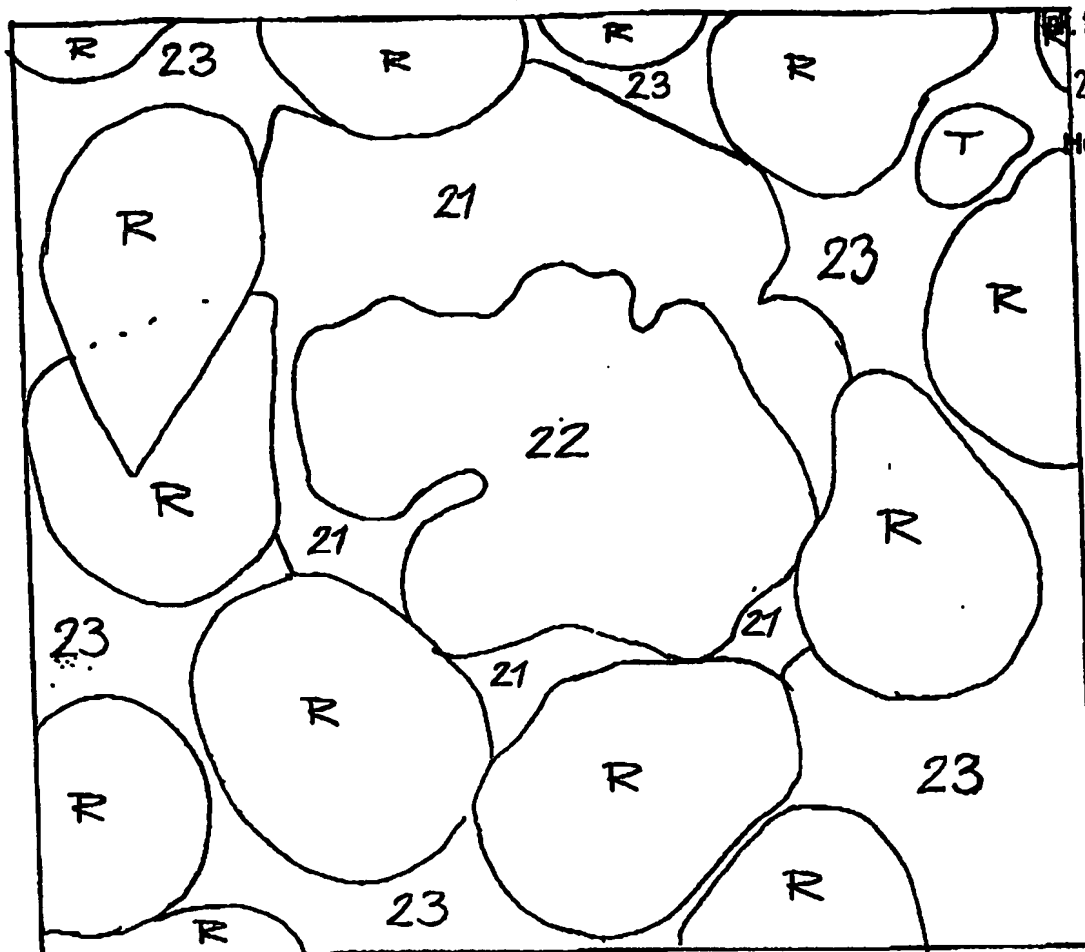


Fig 1b

44001174

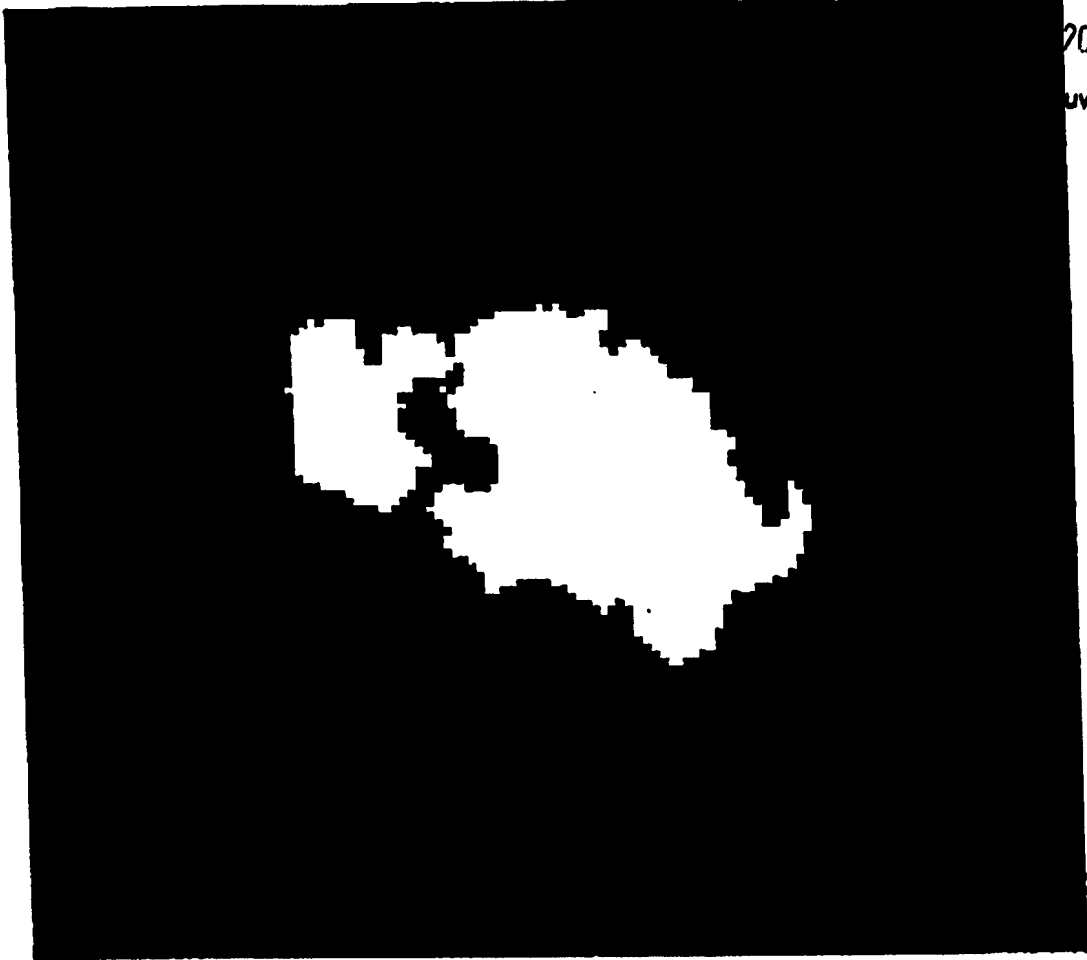


Fig 2

1
4
7
8
9
0

'03 07/21 MAN 13:59 FAX +46 46 286 44 70

CEIA AVISION AB

+46 46 286 44 70/10

Ink. t. Patent- och

2003 -07-

Huvudfaxen K

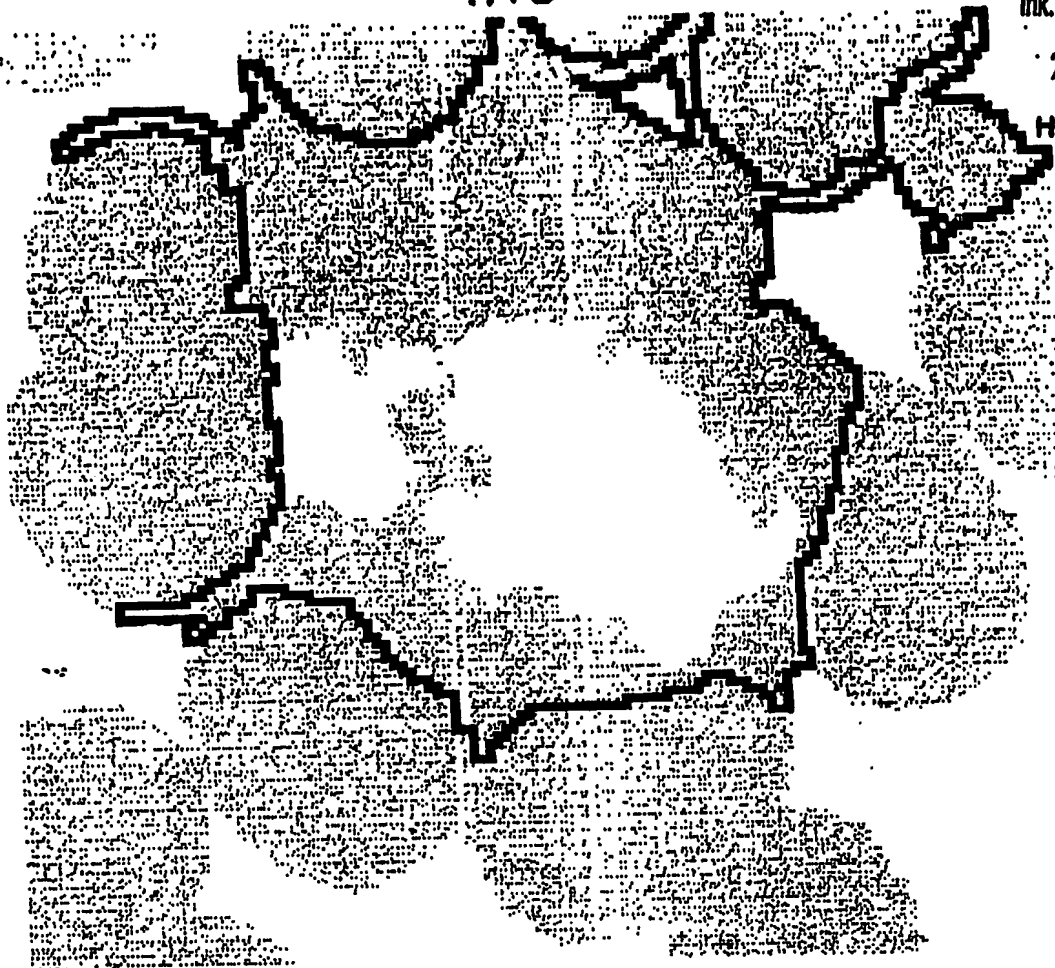


Fig 3

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100

Intent- och

3 -07-

Adfaxen t

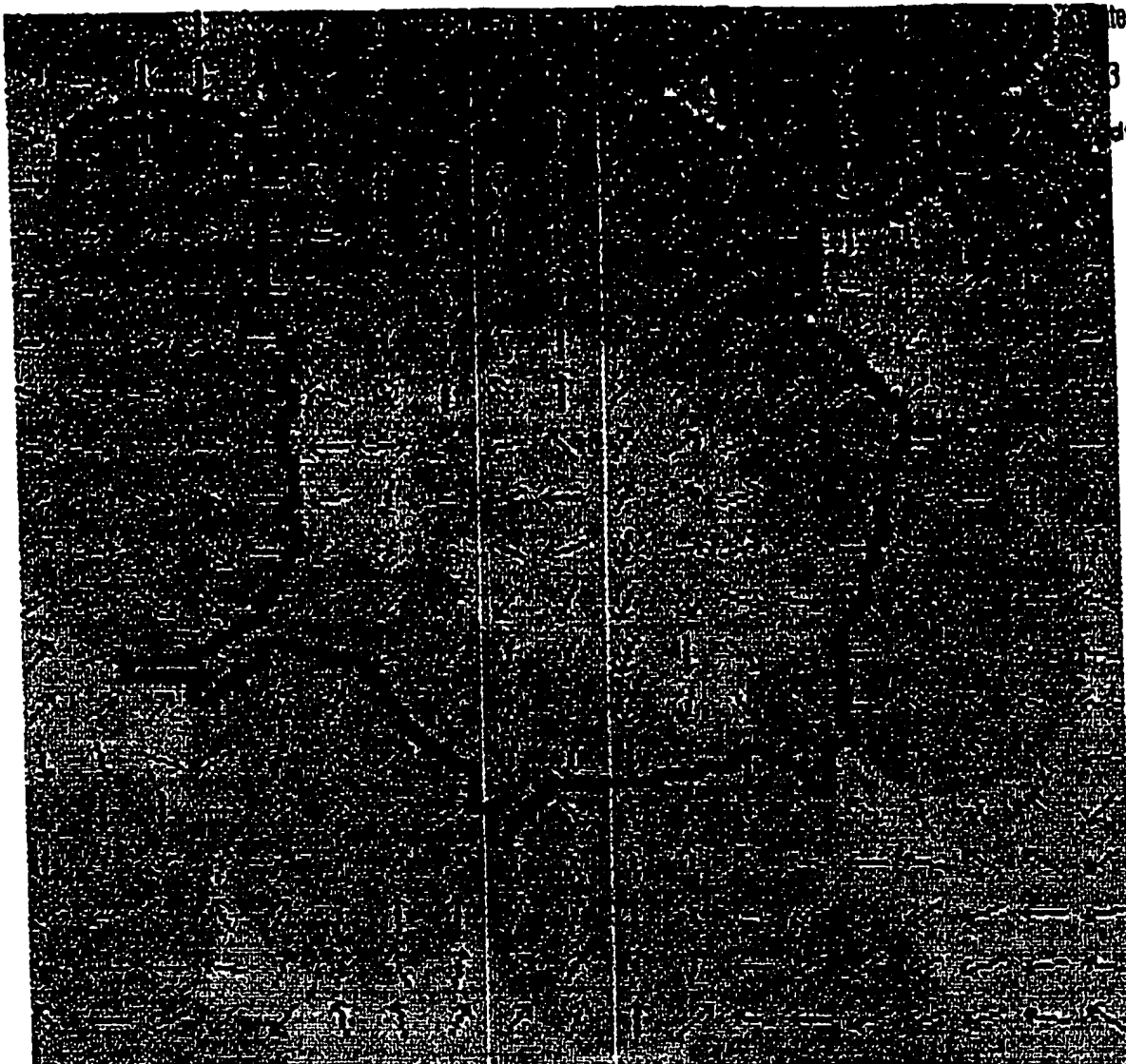


Fig 4

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140
141
142
143
144
145
146
147
148
149
150
151
152
153
154
155
156
157
158
159
160
161
162
163
164
165
166
167
168
169
170
171
172
173
174
175
176
177
178
179
180
181
182
183
184
185
186
187
188
189
190
191
192
193
194
195
196
197
198
199
200
201
202
203
204
205
206
207
208
209
210
211
212
213
214
215
216
217
218
219
220
221
222
223
224
225
226
227
228
229
230
231
232
233
234
235
236
237
238
239
240
241
242
243
244
245
246
247
248
249
250
251
252
253
254
255
256
257
258
259
260
261
262
263
264
265
266
267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303
304
305
306
307
308
309
310
311
312
313
314
315
316
317
318
319
320
321
322
323
324
325
326
327
328
329
330
331
332
333
334
335
336
337
338
339
340
341
342
343
344
345
346
347
348
349
350
351
352
353
354
355
356
357
358
359
360
361
362
363
364
365
366
367
368
369
370
371
372
373
374
375
376
377
378
379
380
381
382
383
384
385
386
387
388
389
390
391
392
393
394
395
396
397
398
399
400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411
412
413
414
415
416
417
418
419
420
421
422
423
424
425
426
427
428
429
430
431
432
433
434
435
436
437
438
439
440
441
442
443
444
445
446
447
448
449
450
451
452
453
454
455
456
457
458
459
460
461
462
463
464
465
466
467
468
469
470
471
472
473
474
475
476
477
478
479
480
481
482
483
484
485
486
487
488
489
490
491
492
493
494
495
496
497
498
499
500
501
502
503
504
505
506
507
508
509
510
511
512
513
514
515
516
517
518
519
520
521
522
523
524
525
526
527
528
529
530
531
532
533
534
535
536
537
538
539
540
541
542
543
544
545
546
547
548
549
550
551
552
553
554
555
556
557
558
559
560
561
562
563
564
565
566
567
568
569
570
571
572
573
574
575
576
577
578
579
580
581
582
583
584
585
586
587
588
589
590
591
592
593
594
595
596
597
598
599
600
601
602
603
604
605
606
607
608
609
610
611
612
613
614
615
616
617
618
619
620
621
622
623
624
625
626
627
628
629
630
631
632
633
634
635
636
637
638
639
640
641
642
643
644
645
646
647
648
649
650
651
652
653
654
655
656
657
658
659
660
661
662
663
664
665
666
667
668
669
670
671
672
673
674
675
676
677
678
679
680
681
682
683
684
685
686
687
688
689
690
691
692
693
694
695
696
697
698
699
700
701
702
703
704
705
706
707
708
709
710
711
712
713
714
715
716
717
718
719
720
721
722
723
724
725
726
727
728
729
730
731
732
733
734
735
736
737
738
739
740
741
742
743
744
745
746
747
748
749
750
751
752
753
754
755
756
757
758
759
760
761
762
763
764
765
766
767
768
769
770
771
772
773
774
775
776
777
778
779
780
781
782
783
784
785
786
787
788
789
790
791
792
793
794
795
796
797
798
799
800
801
802
803
804
805
806
807
808
809
810
811
812
813
814
815
816
817
818
819
820
821
822
823
824
825
826
827
828
829
830
831
832
833
834
835
836
837
838
839
840
84

CEIA AVISION AB

+46 46 286 44 70 70

2003 -07-

Huvudfaxen

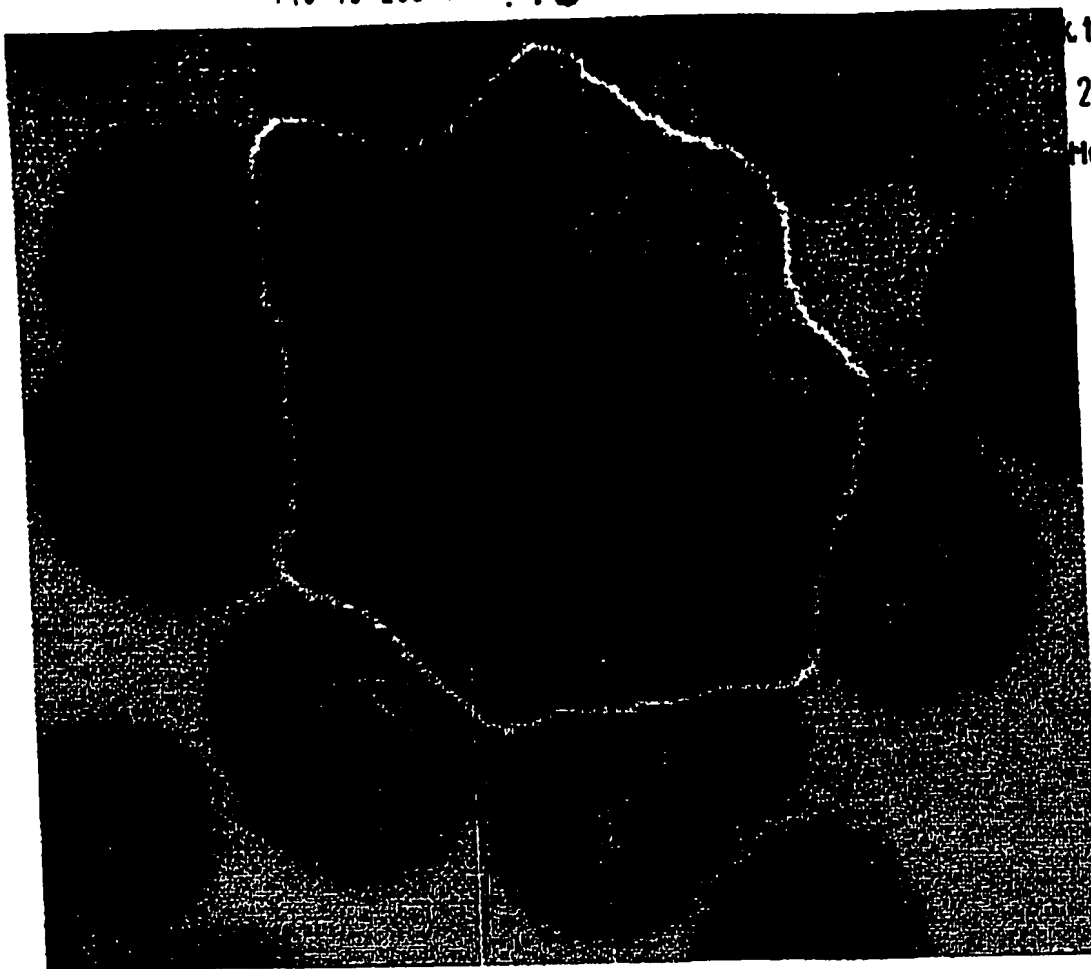


Fig 6

100

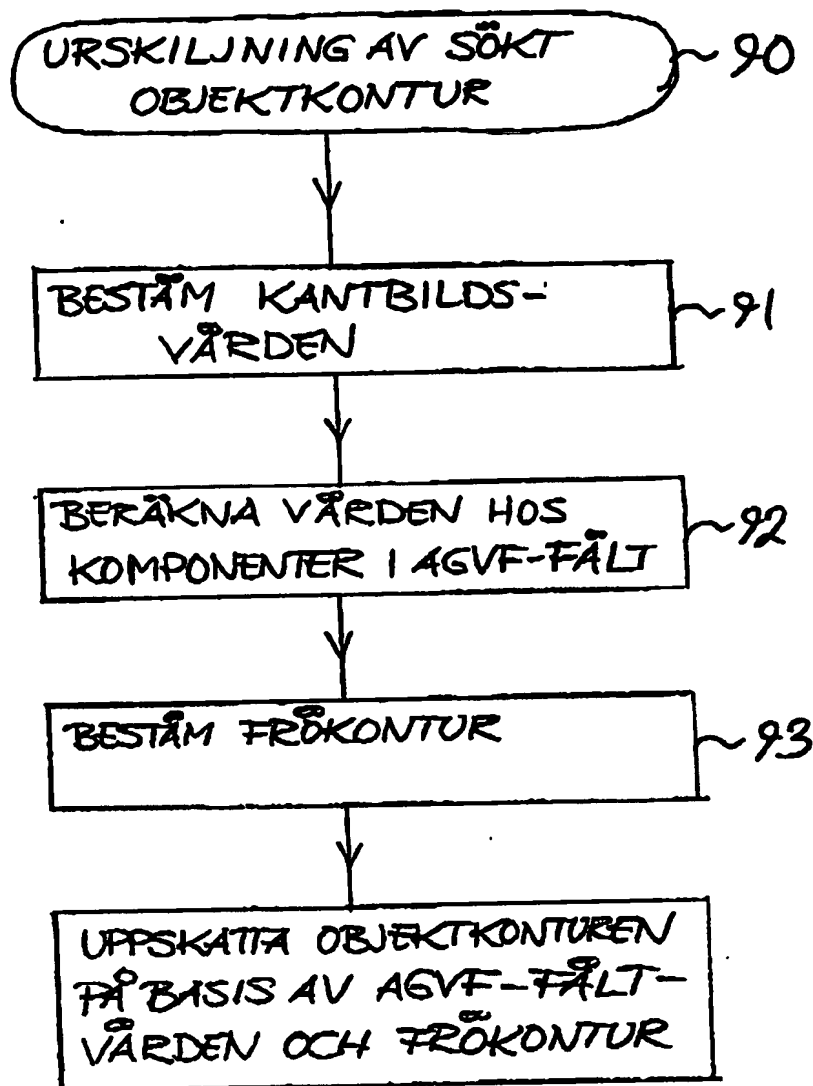


Fig 9

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☒ **FADED TEXT OR DRAWING**

☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☒ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.